زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال هفتم، شماره بیست و ششم، زمستان ۱۳۹۴، صفحه ۷۵-۹۶
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۰۴/۰۸
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۴/۰۸/۲۳
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۰۹/۰۸

ارتقای تحمل و بهبود وضعیت بذر یونجه (*Medicago sativa*) در شرایط تنش شوری تحت تأثیر زمان‌های متفاوت پرایمینگ با Na_2SiO_3 و KNO_3

کیومرث آرمندتراب [۱]، مریم مددکار حق‌جو [۱]* و احمد اسماعیلی [۲]
[۱] گروه فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
[۲] گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

چکیده

مقابله با آثار مخرب تنش شوری که به طور پیش‌رونده منابع آبی و خاکی مناسب برای پرورش گیاهان را محدود نموده، از طریق ارتقای سطح تحمل بذر و گیاهچه میسر است. در پژوهش حاضر، تأثیر پرایمینگ به صورت ترکیب‌های تیماری Na_2SiO_3 و KNO_3 در زمان‌های ۳، ۶، ۹ و ۱۲ ساعت، بر پاسخ رقم همدانی بذر یونجه، به تنش شوری (۲۰۰ میلی مولار) بررسی گردید. شوری سبب افت اغلب شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد بذور و گیاهچه گردید، در حالی که پرایمینگ ۳ ساعته Na_2SiO_3 سبب افزایش درصد جوانه‌زنی و پرایمینگ ۳، ۶ و ۹ ساعته KNO_3 سبب افزایش درصد و ضریب سرعت جوانه‌زنی در بذور تحت تنش در مقایسه با شاهد شد. بهبود میانگین سرعت و زمان جوانه‌زنی در تنش، توسط Na_2SiO_3 ۶ ساعته و کلیه سطوح زمانی KNO_3 و افزایش شاخص ویگور یک توسط KNO_3 ۳ ساعته مشاهده شد. پرایمینگ Na_2SiO_3 ۳، ۶ و ۹ ساعته و تمام تیمارهای KNO_3، سبب کاهش زمان رسیدن به ۵۰ درصد کل جوانه‌زنی در شرایط تنش و در فقدان تنش، تیمارهای ۹ ساعته Na_2SiO_3 و KNO_3، سبب کاهش میانگین روزانه جوانه زنی و افزایش شاخص تیمسون و KNO_3 ۶ و ۹ ساعته سبب بهبود ضریب یکنواختی گردیدند. تیمارهای Na_2SiO_3 و KNO_3 ۱۲ ساعته، باعث بدتر شدن وضعیت و کاهش درصد جوانه‌زنی، افت ویگور یک و دو و کاهش سرعت جوانه‌زنی شدند. Na_2SiO_3 در تمام سطوح و KNO_3 ۹ و ۱۲ ساعته، سبب کاهش وزن خشک ساقه‌چه در تنش شدند. پرولین تنها تحت تأثیر KNO_3 در تنش افزایش یافت و کلروفیل‌ها بر اثر شوری کاهش و تحت تأثیر پرایمینگ افزایش یافتند. به طور کلی، پرایمینگ سبب افزایش تحمل به شوری گردید و ترکیب‌های تیماری با زمان‌های کوتاه‌تر در این رابطه مؤثرتر بودند.

واژه‌های کلیدی: پرایمینگ، تنش شوری، سدیم متاسیلیکات، نیترات پتاسیم، یونجه همدانی

* نگارنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: madadkar.m@lu.ac.ir، شماره تماس: ۰۶۶۳۳۱۲۰۶۱۱

Copyright©2015, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

مقدمه

یونجه، مهم ترین گیاه علوفه‌ای جهان و بومی ایران است که به جهت خوش‌خوراکی، دامنه وسیع سازگاری با محیط و تولید محصول زیاد و با کیفیت، ملکه نباتات نام گرفته است. گیاه یونجه نقش مهمی را در تأمین علوفه خشک و چرای مستقیم دام داشته و در اصلاح مراتع سردسیری و دیم‌زارهای پرشیب و کم بازده مورد استفاده است (Summers, 1998).

سطح زیر کشت یونجه در دنیا حدود ۳۲ میلیون هکتار است که سهم ایران در یک دهه (۱۳۷۳ تا ۱۳۸۲) در حدود ۶۰۰ هزار هکتار بوده است (www.maj.ir, 2015). بررسی‌ها نشان داده است که جوانه‌زنی در واقع یک مرحله حساس است که تراکم و جمعیت گیاه کشت شده را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به بیان دیگر، مراحل رشد اولیه گیاه حساس‌تر از مراحل بعدی آن هستند (Keiffer and Ungar, 1997).

تنش شوری، یک تنش غیرزیستی مهم دارای تأثیرات اساسی بر جوانه‌زنی است و از این طریق می‌تواند خسارات اقتصادی قابل توجهی را به تولید محصولات زراعی وارد آورد (Kayani *et al*., 1990). Dobrenz و همکاران (۱۹۸۶) گزارش نموده‌اند که گیاه یونجه در مرحله جوانه زنی بذر بسیار حساس به شوری است. گرچه این حساسیت می‌تواند در میان گونه‌ها و اکوتیپ‌های یونجه از درجات مختلفی برخوردار باشد (Torabi, 2011).

از مجموع ۶/۸ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی ایران که دارای خاک‌هایی با غلظت‌های مختلف شوری است، حدود ۴/۳ میلیون هکتار، منحصراً دارای مشکل شوری است و حدود ۲/۵ میلیون هکتار علاوه بر شوری، مشکلاتی در رابطه با جنس خاک، معضل فرسایش و کمبود آب‌های زیرزمینی را نیز دارا می‌باشند (Moemeni, 2010).

منابع بسیاری بر اهمیت فتوسنتز در رابطه با متابولیسم فعال و مقدار انرژی و قند تولید شده در گیاه دلالت دارند و مقدار کلروفیل را در شرایط تنش شوری به عنوان یک شاخص حساس برای پی بردن به وضعیت متابولیکی سلول می‌دانند (Chutipaijit *et al*., 2011).

با توجه به اهمیت ویژه یونجه در تأمین علوفه دامی، تثبیت زیستی نیتروژن هوا و نیاز به افزایش تولید و توسعه زراعت یونجه، و نیز با توجه به این که حساسیت یونجه به شوری در مرحله جوانه زنی، در کاهش کمّیت و کیفیت محصول به شدت مؤثر است، از روش پرایمینگ به منظور افزایش آمادگی بذر در مقابله با تنش شوری استفاده شد.

اساس این روش بر آن است که بذور پیش از کاشت، در واقع با یک مرحله هیدراتاسیون محدود تیمار می‌شوند که از این روش اغلب برای افزایش کارائی گیاهان زراعی استفاده می‌شود (Bradford, 1986). در پرایمینگ، آغشته شدن کامل بذور به آب برای ممانعت از خروج ریشه‌چه صورت نمی گیرد، بلکه آغشتگی محدود و کوتاه‌مدت به آب، توسط راهکارهای مختلف نظیر: هیدروپرایمینگ، یا مواجهه با شرایط پتانسیل‌های آبی پایین نظیر اسموپرایمینگ (Chen and Arora, 2013) یا هالوپرایمینگ، به صورت تیمار با نمک‌های غیرآلی نظیر: KNO_3 (Afzal *et al*., 2011) و KH_2PO_4 (Batool *et al*., 2015) انجام می گیرد که در نتیجه آن،

بذور را به سمت و سوی جوانه‌زنی، تا پیش از مرحله خروج ریشه‌چه، سوق می‌دهد (Ashraf and Foolad, 2005). پیشرفت این مراحل در واقع با به راه افتادن وقایع درون سلولی و ساخت و ساز سلولی نظیر افزایش سنتز پروتئین‌هایی موسوم به Type II که در جوانه‌زنی دخیل هستند، انجام می‌شود و بذور پس از کاشت، در سرعت جوانه‌زنی و یکنواختی سبز شدن بهبود نشان می‌دهند. از سوی دیگر، در زمان پرایمینگ، هم به علت روبرو شدن بذور با یک تنش ملایم اولیه و هم به علت پیشرفت فرآیندهای ساخت و ساز سلول در مسیر جوانه‌زنی، بذور مقاومت بیشتری نیز نسبت به تنش‌ها به دست می‌آورند که حتی با خشک شدن آنها، از دست نمی‌رود، و به اصطلاح به صورت خاطره پرایمینگ (priming memory) باقی می‌ماند. در واقع، فرآیندی به نام cross-tolearnce که توسط تنش‌های غیرزیستی در هنگام پرایمینگ فعال می‌شود، می‌تواند از طریق پیشبرد فرآیندهای مولکولی و درون سلولی از جمله: بیان ژن‌ها و سنتز پروتئین‌های ویژه، سبب مقاومت بذور پرایم شده در مقابل تنش‌های محیطی در هنگام جوانه‌زنی گردد (Chen and Arora, 2013). گزارش‌هایی وجود دارد مبنی ابر این که اسموپرایمینگ ممکن است بتواند از طریق تغییر در بیوسنتز هورمون‌ها (افزایش نسبت جیبرلیک اسید به آبسیزیک اسید و اتیلن (Nakaune *et al*., 2012) و به راه انداختن مراحل سیگنالی عمل نماید. اسموپرایمینگ همچنین می‌تواند از طریق فعال سازی سیستم آنتی‌اکسیدانی سلول در بهبود وضعیت سلول برای مقابله با تنش‌های بعدی مؤثر باشد (Chen and Arora, 2011؛ Wojtyla *et al*., 2013).

در رابطه با وقوع و پیشبرد وقایع سیگنالی در حین پرایمینگ، برخی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی نظیر سالیسیلیک اسید، در واقع به عنوان یک شبه هورمون، می‌تواند سبب افزایش آنزیم‌های MPK_3 و MPK_6 (Nakagami *et al*., 2005) و همچنین موجب بالا نگه داشتن نسبت هورمون اکسین و سیتوکینین برای ممانعت از کاهش تقسیم سلولی گردد، و از این طریق در مقابله سلول با تنش‌های غیرزیستی ایفای نقش نماید (Singh and Ushu, 2003).

بذور پرایم شده با Si در زمان کاشت، افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی سلول و نیز بالا نگهداشتن محتوای آب سلول را نشان می‌دهند که در نتیجه امکان مقابله بذر با تنش را افزایش می‌دهد (Farooq *et al*., 2008). گزارش شده است که هالوپرایمینگ بذور با نمک‌ها نیز ممکن است بتواند از طریق جذب مقداری نمک به درون بذور و بنابراین کاهش پتانسیل اسمزی درونی (Zhang *et al*., 2010)، با افزایش دادن مقدار کربوهیدرات‌ها و نیز اسمولیت‌های سازگار، در القای مقاومت بذر به تنش شوری مؤثر باشد (Jisha and Puthur, 2014).

بررسی منابع موجود در رابطه با یونجه، نشان می‌دهد که هیدروپرایم و اسموپرایم بذور یونجه با برخی مواد نظیر: مانیتول، کربنات سدیم، سالیسیلیک اسید و نیز تیمار با یک قارچ‌کش (Triadimefon)، به افزایش مقاومت در برابر تنش شوری منجر شده است (Torabian, 2010؛ Amooaghaei, 2011؛ Najari *et al*., 2011؛ Arab and Ehsanpour, 2012). از سوی دیگر، بررسی توصیه‌های ترویجی به کشاورزان گویای آن است که به

منظور بهبود وضعیت کشت بذر یونجه در مزرعه، پیش از کشت، از کودهای شیمیایی پتاسیمی و فسفری، برخی از عناصر ریزمغذی و همین طور ازتی در خاک استفاده گردد (Berg *et al*., 2005). بنابراین، به نظر رسید با توجه به پیش‌بینی تأثیر مفید این عناصر در کمّیت و کیفیت یونجه و نیز به منظور القای تحمل تنش در بذرها، پرایمینگ با تیمارهای Na_2SiO_3 (سدیم متاسیلیکات) و KNO_3 (نیترات پتاسیم) (Azooz, 2009؛ Batool *et al*., 2015؛ Norouzi Haroni *et al*., 2015) روی بذور پیش از کاشت، اعمال شده و سپس شاخص های رشد و جوانه زنی بذر یونجه در دو حالت اعمال تنش شوری (۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و عدم وجود تنش (آب مقطر) با یکدیگر مقایسه گردند.

مواد و روش‌ها

رقم همدانی، یکی از ارقام معروف گونه *Medicago Sativa* یونجه در ایران است که برای کاشت در مناطقی که دارای زمستان‌های سرد و طولانی و تابستان معتدل نظیر همدان هستند، بسیار مناسب است. این رقم، در مناطق مرتفع یا کوهستانی نظیر همدان، به خوبی رشد می کند و محصول مناسبی تولید می‌نماید. برخی مناطق معتدل و سرد دیگر نظیر: اراک، شمال خراسان، کردستان و سایر مناطق با آب و هوای مشابه، نیز برای کشت این رقم مناسب هستند (Khodabandeh, 2009).

آزمون تعیین غلظت مناسب کلرید سدیم جهت اعمال تنش شوری: برای تعیین غلظت مناسب شوری و بررسی تأثیر آن بر بذور پرایم شده، غلظت های صفر (شاهد یا آب مقطر)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم تهیه شد. ابتدا بذور با محلول ویتاواکس با غلظت ۰/۲ درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی شد و سپس در پتری‌دیش‌های حاوی کاغذ صافی قرار گرفتند. مقدار ۶ میلی‌لیتر از آب مقطر استریل به نمونه شاهد و ۶ میلی لیتر از محلول‌های نمک کلرید سدیم با غلظت های مذکور به هر یک از پتری دیش‌های دیگر به عنوان تیمار افزوده شد. برای هر غلظت، تعداد چهار پتری‌دیش، هر یک به عنوان یک تکرار و هر یک حاوی ۴۰ عدد بذر سالم در نظر گرفته شد، همچنین گروه شاهد نیز در چهار تکرار تهیه گردید. پتری دیش‌های محتوی بذور در شرایط فتوپریودیک، دوره روشنایی ۱۶ ساعت در دمای ۲±۲۵ درجه سانتیگراد و طول دوره تاریکی ۸ ساعت در دمای ۲±۱۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. جوانه‌زنی به طور مرتب و هر ۲۴ ساعت ارزیابی شد. خروج ریشه‌چه به اندازه ۱ میلی‌متر به عنوان جوانه زنی در نظر گرفته شد (De Castro *et al*., 2000). شمارش بذور جوانه‌زده تا روز دوازدهم و نیز سنجش مقدار رنگدانه‌های کلروفیل و کاروتنوئید، طول و وزن خشک اندام‌های هوایی و زیرزمینی و مقدار پرولین، در روز دوازدهم جوانه‌زنی صورت گرفت.

شرایط و مراحل پرایمینگ بذور: در پژوهش حاضر، پرایمینگ با محلول‌های KNO_3 (۰/۹ درصد) و Na_2SiO_3 (۱/۵ میلی مولار) در چهار مدت زمانی ۳، ۶، ۹ و ۱۲ ساعت، در دمای اتاقک رشد انجام گرفت. غلظت‌های استفاده شده از بررسی برخی منابع با مقداری تغییر به کار برده شدند (Ahmadvand *et al*.,

2012؛ Torabi *et al*., 2012). بدین منظور، بذور سالم یونجه همدانی با محلول ویتاواکس ۰/۲ درصد، به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی شدند. آنگاه، بذور در پتری‌دیش‌ها قرار گرفته و میزان ۸ میلی‌لیتر از تیمارهای مزبور به هر یک از پلیت‌ها افزوده شد. در مرحله بعد، پتری‌دیش‌های محتوی بذور در دمای ۲±۲۵ درجه سانتیگراد و در شرایط تاریکی قرار داده شدند. در پایان ساعات مذکور، تیمارهای پرایمینگ قطع شد و بذرها با دستمال کاغذی نرم و بدون کُرک آبگیری شده، برای خشک شدن، به مدت ۴۸ ساعت در دمای فوق قرار گرفتند.

اعمال تنش شوری بر بذور پرایم شده: پس از خشک کردن کامل بذور پرایم شده تا رسیدن به محتوای رطوبت اولیه، تعداد ۴۰ بذر به طور تصادفی درون پتری‌دیش‌هایی با قطر ۱۰ سانتی‌متر دارای دو قطعه کاغذ صافی (به عنوان بستر و نیز پوشش سطحی بذور) قرار گرفتند و ۸ میلی‌لیتر از محلول کلرید سدیم ۲۰۰ میلی‌مولار به نیمی از پتری‌دیش‌ها (شرایط تنش) و معادل آن نیز آب دوبار تقطیر به نیم دیگر پتری‌دیش‌ها (شرایط بدون تنش، آب مقطر) اضافه گردید. برای هر تیمار در سطوح زمانی گفته شده، ۴ پتری دیش در شرایط شوری و ۴ پتری‌دیش دیگر در شرایط آب مقطر (هر پتری‌دیش به عنوان یک تکرار) در نظر گرفته شد، برای گروه شاهد (بذور پرایم نشده) نیز شرایط مشابه مهیا گردید. سپس، همه پتری دیش های محتوی بذور با طول دوره روشنایی و تاریکی مطابق با مراحل قبل قرار داده شدند و کاغذهای صافی هر چهار روز یک‌بار تعویض گردید. ارزیابی و شمارش بذور جوانه‌زده در یک دوره ۱۲ روزه انجام شد تا برای ارزیابی پرولین و برخی شاخص‌های رشد، بیومس کافی فراهم آید. در روز دوازدهم، به منظور سنجش میزان رنگیزه‌ها، اندازه‌گیری طول و وزن خشک ساقه‌چه، ریشه‌چه و سنجش مقدار پرولین برداشت بخش‌های هوایی و زیرزمینی گیاهچه‌های حاصل (با جداسازی از منطقه یقه)، انجام شد. اندازه‌گیری مقدار کلروفیل‌های a و b و کاروتنوئید کل با روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) و با استفاده از متانول خالص و دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل 6300، شرکت JENWAY، انگلستان) بر حسب میکروگرم رنگدانه بر میلی‌گرم وزن تر برگ، محاسبه گردید. کلروفیل کل از مجموع مقادیر کلروفیل‌های a و b به دست آمد.

برای سنجش میزان پرولین، از گیاهچه کامل استفاده شد و این شاخص با روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) بر حسب میکروگرم پرولین بر میلی‌گرم وزن تر بافت اندازه‌گیری گردید. سایر مؤلفه‌ها و شاخص‌ها، بر اساس رابطه‌های ذیل محاسبه و نتایج آن در قالب جدول هایی ارایه شد.

رابطه ۱: درصد جوانه‌زنی نهایی (Final Germination Percentage)، (Kader, 2005).

FGP = (تعداد کل بذر/تعداد نهایی بذر جوانه‌زده) ×۱۰۰

رابطه ۲: میانگین زمان جوانه‌زنی (Mean Germination Time)، (Kader, 2005).

$$MGT = \sum f.\, x / \sum f$$

f: بذور جوانه‌زده در روز x

رابطه ۳: میانگین روزانه جوانه‌زنی (Mean Daily Germination)، (Ranal and Santana, 2006).

MDG = FGP/تعداد روزهای آزمایش

رابطه ۴: ضریب سرعت جوانه‌زنی (Coefficient of Velocity of Germination)، (Jones and Sanders, 1987).

CVG = 100 × (N1 + N2 + · · · + Nx)/ × N1T1 + · · · + NxTx

N: تعداد بذر جوانه‌زده در هر روز؛ T: شماره روز مربوط به تعداد Nام

رابطه ۵: میانگین سرعت جوانه‌زنی، (Mean Germination Rate)، (Labouriau, 1970).

MGR = CVG/100 n: تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر روز/ تعداد روزها از آغاز آزمایش

رابطه ۶: شاخص تیمسون (Timson Index)، (Timson, 1965؛ Pujol *et al*., 2000).

$TI = \sum G_i/T$ G_i: درصد بذور جوانه‌زده در هر روز؛ T: تعداد کل روزهای آزمایش

رابطه ۷: میانگین زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصدجوانه‌زنی (T50)، (Salehzade *et al*., 2009).

T_{50} = ti + [(N/2-ni)(tj-ti)]/(nj-ni) N

N: تعداد نهایی بذر جوانه‌زده؛ ni و nj: به ترتیب مجموع بذور جوانه‌زده در زمان‌های ti و tj به طوری که ni<N/2<nj

رابطه ۸: ضریب یکنواختی جوانه‌زنی (Coefficient of Uniformity of Germination)، (Ranal and Santana, 2006).

$CUG = \sum_{i=1}^{k} n_i / \sum_{i=1}^{k} (D-D_i)^2 n_i$, D= CVG/100

n_i: تعداد بذور جوانه‌زده در هر روز؛ D_i: تعداد روزها از شروع کاشت

رابطه ۹: تعیین ضریب آلومتری (Coefficient of Allometry)، (Shams-Esfandabadi *et al*., 2005).

$CA= L_S /L_r$ L_s: طول ساقه؛ L_r: طول ریشه

رابطه ۱۰: شاخص بنیه یک (شاخص طولی جوانه‌زنی) ((Vigor Index (I))، (Abbasian and Moemeni, 2013).

Vigour Index (I) =(ارتفاع ریشه‌چه + ارتفاع ساقه‌چه) × درصد جوانه‌زنی

رابطه ۱۱: شاخص بنیه دو (شاخص وزنی جوانه‌زنی) ((Vigor Index (II))، (Abbasian and Moemeni, 2013).

Vigour Index (II) = (وزن خشک ریشه‌چه + وزن خشک ساقه‌چه) × درصدجوانه‌زنی

طراحی آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارها شامل پرایمینگ: Na_2SiO_3 و KNO_3 و مدت زمان شامل صفر (شاهد یا بدون پرایمینگ)، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ ساعت و اعمال تنش شوری به صورت ۲۰۰ میلی‌مولار نمک (شرایط تنش) و شرایط بدون تنش (یا آب مقطر) بودند که هر یک از ترکیب‌های تیماری ذکر شده در چهار تکرار انجام گرفت و هر پتری دیش حاوی ۴۰ عدد بذر به عنوان یک تکرار لحاظ شد. محاسبه و دسته‌بندی داده‌های آزمون با نرم‌افزار Excel انجام شد. سپس نتایج به دست آمده با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹، تحت آنالیز واریانس ANOVA و مقایسه میانگین چند دامنه دانکن قرار گرفته و داده‌ها به صورت جدول ارایه شد.

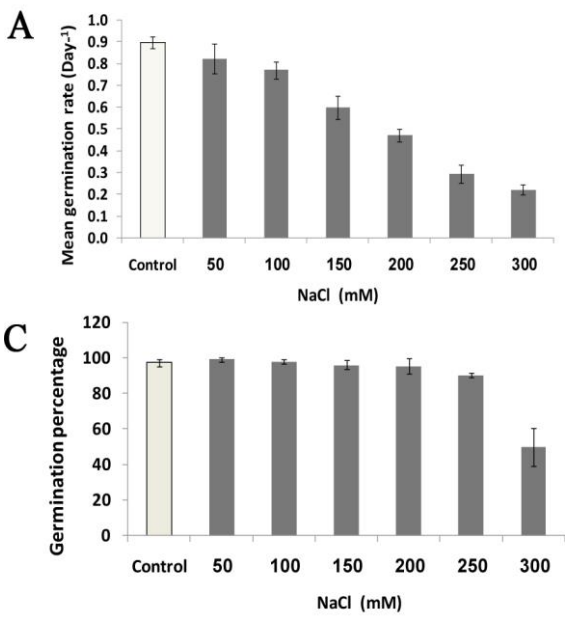
نتایج

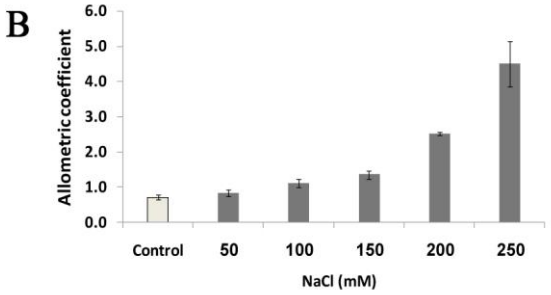
تعیین غلظت مناسب شوری جهت اعمال تنش: شکل ۱-A نشان می‌دهد که میانگین سرعت جوانه‌زنی بذور، با افزایش غلظت نمک کلرید سدیم به صورت تدریجی کاهش یافته، ضریب آلومتری یا نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه (شکل ۱-B)، افزایش می‌یابد، که این موضوع به علت کاهش شدیدتر طول ریشه چه نسبت به ساقه چه است. شکل ۱-C نشان می دهد که از غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار نمک به بعد، درصد جوانه‌زنی کاهش می یابد. غلظت‌های ۲۰۰ میلی‌مولار و بالاتر در محدوده شوری‌های زیاد قرار دارد و در مطالعه حاضر، این غلظت به عنوان غلظت مورد نظر برای اعمال تنش شوری در نظر گرفته شد.

بررسی تأثیر تیمارهای پرایمینگ بر صفات بررسی شده: بررسی داده‌های جدول ۱ نشان می‌دهد که تنش شوری سبب افت قابل ملاحظه درصد جوانه زنی در بذور شاهد شده است. در حالی که برخی تیمارها نظیر تیمار ۳ ساعته Na_2SiO_3 و ۳، ۶ و ۹ ساعته KNO_3، سبب بهبود و افزایش درصد جوانه‌زنی بذور (FGP) در شرایط تنش، در مقایسه با وضعیت شاهد در تنش (۲۰۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم) شده است، گرچه درصد جوانه زنی آنها به مقدار آن در شاهد بدون تنش (آب مقطر) نرسید. تیمارهای ۱۲ ساعته Na_2SiO_3 و KNO_3، هر دو باعث بدتر شدن وضعیت و کاهش درصد جوانه زنی بذور در شرایط تنش حتی در مقایسه با شاهد در تنش، شدند. درصد جوانه زنی کلیه بذور پرایم شده‌ای که در شرایط بدون تنش (آب مقطر) قرار گرفتند، مشابه وضعیت شاهد در آب بود.

مقایسه نمونه های شاهد با یکدیگر نشان می دهد که میانگین زمان جوانه‌زنی (MGT) بر اثر تنش شوری، تقریبا به میزان ۳/۵ برابر افزایش یافته است که نشان‌دهنده تأخیر در جوانه‌زنی بذور یا به بیان دیگر، کاهش سرعت جوانه زنی بذور بر اثر اعمال کلرید سدیم در محیط کشت است. بذور پرایم شده با Na_2SiO_3 ۶ ساعته و کلیه سطوح زمانی تیمار KNO_3 هنگامی که بذور در تنش قرار گرفتند، بهبود وضعیت نسبت به شاهد در تنش را نشان دادند، اما مقدار عددی این شاخص در آنها به شاهد در آب نرسید. تیمار Na_2SiO_3 ۱۲ ساعته، شرایط را حتی نسبت به شاهد در تنش بدتر نمود و سبب افزایش این شاخص به ۴/۰۷ روز در شرایط تنش گردید (جدول ۱).

تیمارهای ۹ ساعته Na_2SiO_3 و KNO_3 در شرایط بدون تنش شوری یا آب، موجب ارتقای بسیار خوب وضعیت متوسط جوانه‌زنی روزانه (MDG) حتی نسبت به شاهد در آب شدند، در حالی که همین تیمارها در شرایط تنش، تغییری در وضعیت بذور ایجاد نکردند (جدول ۱). این موضوع نشان‌دهنده بهبود وضعیت شاخص میانگین جوانه زنی بذور در روز را بر اثر اعمال پرایمینگ در شرایط بدون تنش است، گرچه تیمارهای پرایمینگ، در شرایط تنش، قادر به افزایش تعداد میانگین جوانه‌زنی در روز نبودند. ضریب سرعت جوانه زنی (CVG) که افزایش آن نشان‌دهنده افزایش میزان سرعت جوانه زنی بذور است، بر اثر تنش شوری کاهش یافت. تیمار ۶ ساعته Na_2SiO_3 و تیمارهای ۳، ۶ و ۹ ساعته KNO_3، موجب بهبود وضعیت در شرایط تنش نسبت به شاهد شدند. اغلب تیمارها در شرایط بدون تنش، وضعیتی مشابه شاهد در آب را نشان دادند (جدول ۱).





شکل ۱- تأثیر غلظت‌های مختلف شوری (میلی‌مولار) نمک کلرید سدیم بر شاخص‌های: A) میانگین سرعت جوانه‌زنی، B) ضریب آلومتری بذور یونجه و C) درصد جوانه‌زنی نهایی بذور یونجه (*Medicago sativa*) رقم همدانی در یک آزمون ۱۲ روزه. مقادیر، میانگین چهار تکرار ± StD بوده، حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح P<0.05 است.

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر نوع تیمار و سطوح مختلف زمان پرایمینگ بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور یونجه (*Medicago sativa*). مقادیر، میانگین چهار تکرار ± StD بوده، حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح P<0.05 است. FGP: درصد جوانه‌زنی نهایی، MGT: میانگین زمان جوانه‌زنی، MDG: میانگین روزانه جوانه‌زنی، CVG: ضریب سرعت جوانه‌زنی، MGR: میانگین سرعت جوانه‌زنی، CA: ضریب آلومتری.

تیمار	زمان (ساعت)	FGP (درصد)	MGT (روز)	MDG (درصد بذر در روز)	CVG	MGR (در روز)	CA
شاهد در تنش (بدون پرایم)	۰	۷۰/۲^{d}	۳/۴۷^{ab}	۱۱/۰۰^{e}	۲۹/۴^{fg}	۰/۲۹^{i}	۲/۰۷^{b}
شاهد در آب (بدون پرایم)	۰	۹۹/۴^{a}	۱/۰۵^{e}	۳۹/۶^{cd}	۹۵/۱^{ab}	۰/۹۵$^{a-d}$	۰/۷۰^{c}
	۳	۷۹/۱^{c}	۳/۰۱$^{b-d}$	۹/۱۷^{e}	۳۳/۳$^{e-g}$	۰/3۳$^{g-i}$	۱/۹۴^{b}
اعمال تنش شوری، به بذور	۶	۶۷/۵^{d}	۲/۶۲^{d}	۷/۸۹^{e}	۳۸/۰^{e}	۰/۳۸^{gh}	۲/۱۲^{b}
پرایم شده با Na_2SiO_3	۹	۶۶/۶^{d}	۳/۳۷^{bc}	۷/۳۷^{e}	۳۱/۱^{fg}	۰/۳۱^{hi}	۲/۱۰^{b}
	۱۲	۴۳/۷^{f}	۴/۰۷^{a}	۴/۴۴^{e}	۲۶/۴^{g}	۰/۲۶^{i}	۲/۳۸^{ab}
	۳	۹۹/۳^{a}	۱/۱۳^{e}	۳۰/۴۹^{d}	۸۸/۷^{bc}	۰/۸۹$^{c-e}$	۰/۹۳^{c}
بدون تنش شوری (در آب مقطر)،	۶	۹۹/۳^{a}	۱/۰۴^{e}	۴۹/۵^{c}	۹۶/۴^{ab}	۰/۹۶$^{a-c}$	۰/۸۹^{c}
پرایم شده با Na_2SiO_3	۹	۹۹/۳^{a}	۱/۰۶^{e}	۸۲/۹^{b}	۹۴/۶$^{a-c}$	۰/۹۸^{ab}	۰/۹۴^{c}
	۱۲	۱۰۰/^{a}	۱/۲۶^{e}	۵۰/۰^{c}	۸۴/۶^{c}	۰/۸۵^{e}	۰/۷۶^{c}
	۳	۸۵/۶^{b}	۲/۵۰^{d}	۱۰/۹۵^{e}	۵۰/۷^{d}	۰/۵۱^{f}	۲/۳۹^{ab}
اعمال تنش شوری، به بذور	۶	۸۰/۶^{b}	۲/۴۰^{d}	۱۱/۲۳^{e}	۳۸/۶^{e}	۰/۳۹^{gh}	۲/۳۳^{b}
اسموپرایم شده با KNO_3	۹	۷۸/۷^{c}	۲/۳۳^{d}	۹/۰۳^{e}	۴۵/۳^{de}	۰/۵۰^{f}	۲/۰۹^{b}
	۱۲	۵۳/۳^{e}	۲/۷۲^{cd}	۶/۵۰^{e}	۳۱/۸^{fg}	۰/۴۱^{g}	۲/۹۶^{a}
	۳	۱۰۰^{a}	۱/۱^{e}	۳۹/۵^{cd}	۹۰/۶^{ac}	۰/۹۱$^{b-e}$	۱/۳^{c}
بدون تنش شوری (در آب مقطر)،	۶	۹۸/۱^{a}	۱/۰۳^{e}	۴۹/۱^{c}	۹۷/۵^{ab}	۰/۹۸^{ab}	۱/۰۴^{c}
اسموپرایم شده با KNO_3	۹	۹۹/۳^{a}	۱/۰۱^{e}	۹۹/۷^{a}	۹۹/۳^{a}	0/۹۹^{a}	۱/۳۴^{c}
	۱۲	۱۰۰^{a}	۱/۱۴^{e}	۵۰/۰^{c}	۸۸/۰^{bc}	۰/۸۸^{de}	۱/۰۳^{c}

تیمار ۶ ساعته Na_2SiO_3 و کلیه سطوح زمانی KNO_3، موجب افزایش میانگین سرعت جوانه‌زنی (MGR)، و بهبود وضعیت بذور در تنش، نسبت به شاهد در تنش شدند، اما قادر به افزایش جوانه زنی به میزان شاهد در آب نبودند. تیمارهای پرایمینگ در شرایط تنش، سبب تغییری در ضریب آلومتری (CA)، نسبت به شاهد در تنش نشدند. زیرا در کلیه موارد، رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه بر اثر نمک، به یک میزان کاهش یافت. تنها در تیمار ۱۲ ساعته KNO_3، به دلیل کاهش شدیدتر طول ریشه‌چه نسبت به ساقه‌چه، افزایش ضریب آلومتری مقداری بیش از شاهد در تنش مشاهده گردید (جدول ۱).

تیمار ۳ ساعته KNO_3 موجب بهبود شاخص ویگور یک (Vig I) در تنش گردید، اما تیمارهای ۱۲ ساعته Na_2SiO_3 و KNO_3، سبب افت شاخص و بدتر شدن وضعیت، حتی نسبت به شاهد در تنش شدند (جدول ۲).

در نمونه‌های پرایم نشده، وزن خشک ساقه تحت تأثیر تنش شوری تغییر نکرد، اما وزن خشک ریشه‌چه کاهش یافت. تیمارهای Na_2SiO_3 و تیمارهای ۹ و ۱۲ ساعته KNO_3 نیز سبب کاهش وزن خشک ساقه چه در تنش شدند.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر نوع تیمار و سطوح مختلف زمان پرایمینگ بر شاخص های رشد، جوانه‌زنی و مقدار پرولین در بذور یونجه (*Medicago sativa*). مقادیر، میانگین چهار تکرار ± StD بوده، حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح $P<0.05$ است.

تیمار	زمان (ساعت)	شاخص ویگور یک	وزن خشک ساقه (میلی گرم)	وزن خشک ریشه (میلی گرم)	شاخص ویگور دو	شاخص تیمسون	زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی (روز)	ضریب یکنواختی جوانه‌زنی	پرولین (میکروگرم بر میلی گرم وزن تر)
شاهد در تنش (بدون پرایم)	۰	۱۲۲^{gh}	۱/۶۴^{ab}	۰/۲۵$^{c-f}$	۱۳۰^{bc}	11/۲^{d}	۲/۹۶^{a}	۰/۴۳^{f}	۵۲^{a}
شاهد در آب (بدون پرایم)	۰	۴۷۹^{a}	۱/۶۱^{ab}	۰/۵۹^{a}	۲1۸^{a}	۳۹/۶^{bc}	۰/۰۱^{f}	۲۶/۲^{bc}	۷^{d}
	۳	۱۴۲^{fg}	۱/۰۶^{d}	۰/۲۴$^{d-f}$	۱۰۲^{cd}	۹/۱^{d}	۱/۷۸^{cd}	۰/۲۹^{f}	۲/۲^{d}
اعمال تنش شوری،	۶	۱۰۷$^{g-i}$	۱/۱۷$^{b-d}$	۰/۱۹^{ef}	۹۱/۳^{cd}	۷/۹^{d}	۱/۶^{cd}	۰/۳۳^{f}	۳/۶^{d}
به بذور پرایم شده با Na_2SiO_3	۹	۸۸/۱^{hi}	۱/۱۴^{cd}	۰/۲۰^{ef}	۹۰/۷^{cd}	۶/۶^{d}	۱/۹۸^{bc}	۰/۲۸^{f}	۵/۸^{d}
	۱۲	۶۳/۷^{i}	۱/۰۹^{d}	۰/۳۶$^{b-e}$	۷۱/۶^{de}	۴/۴^{d}	۲/۴۴^{ab}	۰/۱۵^{f}	۲/۶^{d}
	۳	۴۵۰$^{a-d}$	۱/۵۸$^{a-c}$	۰/۳۴$^{b-e}$	۱۹۰^{a}	۳۰/۴^{c}	۰/۰۱^{f}	۲۱/۴^{c}	۲/۹^{d}
بدون تنش شوری (در آب	۶	۴۳۴$^{a-e}$	۱/۶۱^{ab}	۰/۴۱^{bc}	۲۰۱^{a}	۴۹/۵^{b}	۰/۰۱^{f}	۲۵/۳^{bc}	۳/۲^{d}
مقطر)، پرایم شده با Na_2SiO_3	۹	۴۰۹$^{c-e}$	۱/۶۳^{ab}	۰/۳۹$^{b-d}$	۲۰۰^{a}	۸۲/۹^{a}	۰/۰۱^{f}	۱۸/۴^{cd}	۲/۳^{d}
	۱۲	۴۷۶^{ab}	۱/۵۵$^{a-c}$	۰/۴۴^{ab}	۱۹۹^{a}	۴۳/۷^{bc}	۰/۰۱^{f}	۵/۸۱^{ef}	۲/۵^{d}
	۳	۱۷۵^{f}	۱/۹۴^{a}	۰/۲۸$^{b-f}$	۱۹۵^{a}	۱۰/۹^{d}	۱/۳^{de}	۰/۳۵^{f}	۱۶^{c}
اعمال تنش شوری،	۶	۱۴۴^{fg}	۱/۵۷$^{a-c}$	۰/۲۳$^{d-f}$	۱۴۷^{b}	۱۴/۰^{d}	۱/۰۵^{e}	۰/۳۵^{f}	۲۰^{c}
به بذور اسموپرایم شده	۹	۱۳۲$^{f-h}$	۱/۱۳^{cd}	۰/۲۷$^{b-f}$	۱۱۱^{bcd}	۹/۰^{d}	۰/۹۳^{e}	۰/۳۲^{f}	۱۷^{c}
با KNO_3	۱۲	۶۶/۷^{i}	۰/۷۳^{d}	۰/۱۱^{f}	۴۴/۹^{e}	۸/۴^{d}	۱/۵$^{c-e}$	۰/۲۶^{f}	۲۷^{b}
	۳	۳۹۴/۵^{de}	۱/۷۵^{a}	۰/۳۹$^{b-d}$	۲۱۳^{a}	۳۹/۵^{bc}	۰/۰۱^{f}	۱۱/۳^{de}	۵^{d}
بدون تنش شوری (در آب	۶	۴۲۴$^{b-e}$	۲/۰۱^{a}	۰/۴۳^{bc}	۲۱۳^{a}	۴۹/۱^{b}	۰/۰۱^{f}	۳۲/۰^{ab}	۴^{d}
مقطر)، اسموپرایم شده با	۹	۳۷۲^{e}	۱/۷۸^{a}	۰/۳۴$^{b-e}$	۲۱۰^{a}	۸۷/۱^{a}	۰/۰۱^{f}	۳۶/۳^{a}	۶^{d}
KNO_3	۱۲	۴۱۸$^{c-e}$	۱/۸۴^{a}	۰/۳۵$^{b-e}$	۲۱۸^{a}	۵۰/۰^{b}	۰/۰۱^{f}	۹/۷$^{d-f}$	۶^{d}

در ارتباط با ریشه چه، تیمارهای پرایمینگ سبب کاهش وزن خشک ریشه‌چه در شرایط بدون تنش (آب مقطر) شدند اما مقادیر، از مقدار وزن خشک ریشه‌چه در شرایط تنش بیشتر بودند (جدول ۲). شاخص ویگور دو (Vig II) که با مجموع مقادیر وزن خشک ساقه چه و ریشه چه مرتبط است، نیز در اثر تنش شوری کاهش یافت، اما بر اثر تیمار ۳ ساعته KNO_3 به مقدار آن در شاهد در آب رسید. پرایمینگ‌های ۱۲ ساعته هر دو تیمار، این شاخص را به مقداری پایین‌تر از شاهد در تنش رساند. نمونه‌های تیمار شده در آب، شرایطی مشابه شاهد در آب داشتند (جدول ۲). تیمار ۹ ساعته با Na_2SiO_3 و KNO_3، شاخص تیمسون (TI) که بالا بودن آن نشان‌دهنده سرعت بیشتر جوانه زنی بذور است را در شرایط بدون تنش، به مقداری خیلی بیشتر از شاهد در آب افزایش داد (جدول ۲). تیمارهای سطوح زمانی ۳، ۶ و ۹ ساعته Na_2SiO_3 و تمامی سطوح زمانی KNO_3، سبب کاهش زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد کل جوانه زنی (T50) و بهبود شرایط شد اما به اندازه شاهد در آب نرسید. کاهش زمان رسیدن به ۵۰ درصد کل جوانه‌زنی، می‌تواند در کاهش فاصله جوانه‌زدن بذور و بنابراین بهبود وضعیت سبز شدن دارای اهمیت باشد. ضمن این که بذور پرایم شده در آب دارای شرایطی مشابه شاهد خود بودند (جدول ۲). دو تیمار ۶ و ۹ ساعته KNO_3 سبب بهبود و افزایش ضریب یکنواختی جوانه زنی (CUG) بذور در شرایط آب شدند. اما تیمار ۱۲ ساعته Na_2SiO_3 باعث بدتر شدن وضعیت و کاهش ضریب یکنواختی تا حد شاهد در تنش، برای بذور در شرایط آب شد (جدول ۲). افزایش این ضریب نشان‌دهنده یکنواختی بیشتر در سبز شدن و کاهش بدسبزی (عدم ظهور یکسان و همزمان گیاهچه‌ها) بذور است.

بنابراین به طور کلی، شاخص‌های FGP، MGT، CVG، MGR و T50 در بیشتر حالت‌ها نشان‌دهنده برتری تیمارهای Na_2SiO_3 ۳ و ۶ ساعته و نیز کلیه ترکیب‌های زمانی تیمار KNO_3 در شرایط تنش بود و در شرایط فقدان تنش، در بیشتر حالت‌ها، وضعیت مشابه نمونه شاهد در آب بود اما برتری ترکیب های تیماری در زمان‌های ۶ و ۹ ساعت با هر دو ماده نیز در این شرایط مشاهده شد.

با مقایسه شاهد در آب و شاهد در تنش، تفاوت قابل ملاحظه و بیش از ۷ برابری مقدار پرولین در شاهد تنش شوری، نسبت به شاهد در آب، ملاحظه گردید. کلیه سطوح زمانی تیمار KNO_3 موجب افزایش مقدار پرولین در بذور در تنش اما تا کمتر از مقدار شاهد در تنش گردیدند، سایر تیمارها تغییری نداشتند. افزایش مقدار پرولین در تیمار ۱۲ ساعته KNO_3 در تنش، از سه سطح زمانی دیگر بیشتر بود و به نظر می‌رسد، این مورد که در اغلب شاخص ها نیز وضعیت مناسبی نداشته، بهبود وضعیت بذر در آن ملاحظه نمی‌شود، ممکن است نشان‌دهنده شدت مقابله با تنش باشد. تیمار Na_2SiO_3 در هیچ یک از نمونه‌ها از جمله تیمار ۱۲ ساعته سبب افزایش مقدار پرولین نشد (جدول ۲). مقدار کلروفیل a (Chl a) در شاهد در تنش کاهش یافت و به حدود یک سوم مقدار آن در شاهد در آب رسید. اغلب تیمارهای Na_2SiO_3 و کلیه تیمارهای KNO_3، مقدار کلروفیل گیاهچه در تنش را به میزان شاهد در آب افزایش دادند. وضعیت کلیه تیمارها در آب نیز مشابه شاهد در آب بود، به غیر از آن که تیمار

۱۲ ساعته KNO_3، مقدار کلروفیل a گیاهچه در شرایط بدون تنش را به میزان بیشتری افزایش داد و به ۱/۵ برابر مقدار آن در شاهد در آب رسانید (جدول ۳). کلروفیل b (Chl b) نیز در اثر تنش کاهش یافت، اما اغلب تیمارها سبب افزایش مقدار آن در شرایط تنش شدند (جدول ۳). به علت تغییرات تقریباً هماهنگ هر دو کلروفیل در بیشتر حالت‌های تنش و غیرتنش، نسبت کلروفیل a به b تغییر چندانی نداشت، گرچه در تیمار با KNO_3 مقداری افزایش مشاهده شد (جدول ۳). اغلب تیمارها در تنش، سبب افزایش مقدار کلروفیل کل (T Chl) به میزان شاهد در آب شدند (جدول ۳). مقدار کاروتنوئید کل تنها بر اثر تیمار ۶ ساعته Na_2SiO_3 در شرایط تنش افزایش یافت. نسبت کاروتنوئید به کلروفیل نیز به دلیل افزایش مقدار کلروفیل در بیشتر حالت‌ها کاهش یافت (جدول ۳).

بنابراین، به طور کلی، تنش شوری سبب کاهش مقدار کلروفیل‌های a و b و کلروفیل کل شد و مقدار کاروتنوئید کل را نیز کاهش داد، اما پرایمینگ با KNO_3 و Na_2SiO_3، تقریباً در تمامی حالت‌ها، سبب افزایش مقدار کلروفیل‌ها در گیاهچه در حالت تنش شد، در حالی که نسبت کلروفیل‌ها و مقدار کاروتنوئید را تحت تأثیر قرار نداد. در عین حال، در برخی موارد نیز تأثیر تیمارها (به طور عمده در شرایط آب) موجب بهبود شاخص‌ها به وضعیتی بهتر از شاهد در آب گردید.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر نوع تیمار و سطوح مختلف زمان پرایمینگ بر رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاهچه یونجه (*Medicago sativa*). بر حسب میکروگرم بر میلی‌گرم وزن تر. مقادیر، میانگین چهار تکرار ± StD بوده، حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح $P<0.05$ است.

تیمار	زمان (ساعت)	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a به کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید کل	کاروتنوئید کل به کلروفیل کل
شاهد در تنش (بدون پرایم)	۰	۰/۱۲^{h}	۰/۱۵^{h}	۰/۷۹^{d}	۰/۲۷^{g}	۰/۰۷$^{b-e}$	۰/۲۶^{b}
شاهد در آب (بدون پرایم)	۰	۰/۴۴$^{b-d}$	۰/۴۳$^{b-f}$	۱/۰۱$^{b-d}$	۰/۸۷$^{a-e}$	۰/۰۸$^{b-e}$	۰/۰۹^{c}
اعمال تنش شوری، به بذور پرایم شده با Na_2SiO_3	۳	۰/۴۴$^{b-d}$	۰/۴۹$^{a-e}$	۰/۸۸^{d}	۰/۹۳$^{a-e}$	۰/۰۲^{f}	۰/۰۲^{c}
	۶	۰/۲۸$^{e-g}$	۰/۳۵$^{c-g}$	۰/۸۴^{d}	۰/۶۳^{ef}	۰/۲۷^{a}	۰/۴۰^{a}
	۹	۰/۲۶$^{f-h}$	۰/۲۷$^{f-h}$	۱/۰۴$^{a-d}$	۰/۵۳^{fg}	۰/۰۲^{f}	۰/۰۳^{c}
	۱۲	۰/۳۴$^{d-f}$	۰/۵۰$^{a-d}$	۰/۷۶^{d}	۰/۸۴$^{b-f}$	۰/۰۳^{ef}	۰/۰۲^{c}
بدون تنش شوری (در آب مقطر)، پرایم شده با Na_2SiO_3	۳	۰/۱۵^{gh}	۰/۱۷^{gh}	0/۸۸^{d}	۰/۳۱^{g}	۰/۰۲^{f}	۰/۰۵^{c}
	۶	۰/۴۹ $^{a-d}$	۰/۵۳$^{a-c}$	۰/۹۳^{cd}	1/۰۲$^{a-d}$	۰/۰۵$^{d-f}$	۰/۰۵^{c}
	۹	۰/۵۲$^{a-d}$	۰/۵۸^{ab}	۰/۸۸^{d}	۱/۱۰$^{a-c}$	۰/۰۵$^{d-f}$	۰/۰۵^{c}
	۱۲	۰/۵۶^{ab}	۰/۶۵^{a}	0/۸۷^{d}	۱/۲۱^{a}	۰/۰۵$^{d-f}$	۰/۰۴^{c}
اعمال تنش شوری، به بذور اسموپرایم شده با KNO_3	۳	۰/۳۸$^{c-f}$	۰/۲۹$^{e-h}$	1/۲۶^{ab}	0/۶۷$^{d-f}$	۰/۰۸$^{b-d}$	۰/۱۲^{c}
	۶	۰/۴۸ $^{a-d}$	۰/۴۰$^{b-f}$	1/۲۳$^{a-c}$	۰/۸۷$^{a-e}$	۰/۰۷$^{b-e}$	۰/۰۹^{c}
	۹	۰/۴۴$^{b-d}$	۰/۳۴$^{c-g}$	۱/۳۲^{ab}	۰/۷۸$^{b-f}$	۰/۰۴$^{d-f}$	۰/۰۶^{c}
	۱۲	۰/۴۸ $^{a-d}$	۰/۳۸$^{c-f}$	۰/8۸^{d}	۰/۸۷$^{a-f}$	۰/۰۶$^{c-f}$	۰/۰۷^{c}
بدون تنش شوری (در آب مقطر)، اسموپرایم شده با KNO_3	۳	/۴۴$^{b-d}$	۰/۳۷$^{c-f}$	1۲۸^{ab}	۰/۸۱$^{b-f}$	۰/۰۵$^{c-f}$	۰/۰۹^{c}
	۶	۰/۴۳$^{b-e}$	۰/۳۲$^{d-h}$	۱/۳۴^{a}	۰/۷۵$^{c-f}$	۰/۱۱^{b}	۰/۱۴^{c}
	۹	۰/۵۲$^{a-c}$	۰/۴۱$^{b-f}$	۱/۲۷^{ab}	۰/۹۲$^{a-e}$	۰/۰۷$^{b-e}$	۰/۰۷^{c}
	۱۲	۰/۶۲^{a}	۰/۴۸$^{a-e}$	۱/۳۰^{ab}	۱/۱^{ab}	۰/۰۱^{bc}	۰/۱^{c}

بحث

گیاه یونجه با آستانه تحمل حدود ۲۰ و حداکثر تحمل ۱۶۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم، یک گیاه نسبتاً حساس به شوری شناخته می‌شود (Shannon, 1984)، اما بررسی میزان تحمل آن می‌بایست در سه مرحله رشدی یعنی جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و رشد مجدد گیاه بالغ پس از برداشت، بررسی شود (Smith, 1984)، زیرا تحمل گیاه به شوری با افزایش رشد و توسعه آن، افزایش می‌یابد (Darvishi *et al*., 2005). از سویی، مرحله جوانه‌زنی یونجه نیز نخستین و حساس‌ترین مرحله نسبت به تنش شوری است (Dobrenz *et al*., 1986).

بر اساس منابع، غلظت‌های نمکی محدوده ۱۵۰ میلی‌مولار و بالاتر، در گروه بسیار شور (highly saline) دسته‌بندی می‌شوند (Pitman and Läuchli, 2002 به نقل از Hasanuzzaman و همکاران (۲۰۱۳)). در آزمون اعمال غلظت‌های مختلف نمک، درصد جوانه‌زنی بذور یونجه رقم همدانی از غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار نمک به بعد، کاهش یافت. بنابراین غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار به عنوان یک غلظت نمکی بالا که بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد بذور اثر منفی دارد اما سبب مرگ گیاهچه نیز نمی‌گردد و از سوی دیگر، تلاش در جهت بهبود رویش بذور برای رشد در خاک‌های دارای این محدوده نمکی نیز منطقی‌تر و محتمل‌تر به نظر می رسد، برای اعمال تنش شوری انتخاب گردید. در محیط طبیعی نیز امکان رشد و استقرار یونجه در زمین‌های با شوری بیشتر از ۲۰۰ میلی‌مولار بسیار پایین است. نتایج حاصل از یک مطالعه در ارزیابی درصد جوانه زنی بذر یونجه رقم همدانی در غلظت‌های مختلف نمک، به معرفی غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار به عنوان غلظت‌های مؤثر در کاهش شدید درصد جوانه‌زنی منجر گردید (Amooaghaei, 2011). بنابراین، کاهش درصد جوانه‌زنی از شوری ۲۰۰ میلی‌مولار به بعد، ممکن است بتواند در تعیین حساسیت و تحمل بذر به تنش شوری نیز مورد توجه قرار گیرد.

Soltani و همکاران (۲۰۱۲) غلظت بحرانی حساسیت به شوری در اندام‌های هوایی را از روی تأثیر بر تعداد برگ در بوته، طول ساقه، طول گیاه، وزن تر و خشک، (در برخی از ارقام یونجه نظیر همدانی، قره‌یونجه، رهنانی، نیکشهری و یزدی)، ۱۵۰ و برای شاخص طول ریشه، غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار معرفی نمودند. در مطالعه حاضر، طول ساقه گیاهچه (۱۲ روزه) در غلظت‌های ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار، و نیز طول ریشه‌چه و کلیه وزن‌های تر و خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه از غلظت ۵۰ میلی‌مولار به بعد کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد (فاقد نمک) نمایان ساختند (نتایج نشان داده نشده است). همچنین ضریب آلومتری یا نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه در این شرایط با افزایش غلظت نمک اعمال شده افزایش یافت که این مورد، به دلیل تفاوت در میزان حساسیت و میزان کاهش رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه نسبت به تغییر فشار تورژسانس و سمّیت نمک است (Taize and Ziger, 2000). میزان این حساسیت می‌تواند در گیاهان مختلف متفاوت باشد، برای نمونه در یک بررسی، گیاه *Nepeta persica* با افزایش میزان شوری، کاهش شدیدتری را در طول ساقه‌چه در مقایسه با طول ریشه‌چه نشان داد، به طوریکه ضریب آلومتری در آن کاهش یافت (Ali Mohammadizad *et al*., 2013) در حالی که بررسی دیگر، کاهش شدیدتر طول ریشه‌چه

یعنی وضعیتی مشابه تحقیق حاضر را نشان داده است (Amoo-Zad-Khalili *et al*., 2013).

اعمال شوری ۲۰۰ میلی‌مولار سبب کاهش شدید طول ساقه‌چه و افت شدیدتر طول ریشه‌چه نسبت به شاهد بدون تنش (در آب) گردید. پرایمینگ بذور با Na_2SiO_3 و KNO_3 در برخی از سطوح زمانی سبب مقداری افزایش در طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در شرایط تنش گردید، اما از آنجا که این مقادیر را تقریباً به یک میزان افزایش داد، ضریب آلومتری در بذور پرایم شده تفاوت معنی‌داری با شاهد در تنش نشان نداد. بذور پرایم شده در شرایط بدون تنش نیز طول ریشه‌چه و ساقه‌چه کمتری نسبت به شاهد در آب داشتند، اما در این حالت، نسبت ساقه‌چه به ریشه‌چه همچنان ثابت ماند. بر اساس منابع، عوامل منتج به کاهش طول ساقه و ریشه در شرایط تنش، کاهش پتانسیل اسمزی محیط و مقدار آب سلول، تجمع یون‌های سمّی نظیر سدیم و کلر، کاهش مقدار فتوسنتز، تولید رادیکال‌های آزاد و نیز کاهش مقدار فسفر دانسته شده (Overlach *et al*., 1993؛ Munns, 2002؛ Blomster *et al*., 2011) و مشخص شده است که در مواجهه با تنش نمکی، اغلب رشد ساقه بیشتر از ریشه کاهش می‌یابد (Lauchli and Epstein, 1990) اما برخی گزارش‌ها نیز گویای تأثیرپذیری منفی بیشتری در بخش ریشه‌ها هستند (Bar *et al*., 1997؛ Ebadi Almas *et al*., 2013).

به طور کلی، غلظت‌های کمتر نمک، سبب اندکی افزایش طول در ریشه‌ها می‌شود، در حالی که غلظت‌های بیشتر، از رشد طولی ریشه‌ها می‌کاهند (Wang *et al*., 2009؛ Zolla *et al*., 2010). بررسی‌ها نشان داده است که کاهش رشد ریشه در واقع نتیجه ممانعت چرخه سلولی و کاهش اندازه مریستم انتهای ریشه است (West *et al*., 2004). گزارش‌ها همچنین بیانگر این است که در تنش‌های کوتاه مدت نیز طول ریشه کاهش یافته، اما مشاهده شده است که ظرفیت جذب ریشه برای جبران کاهش سطح جذب در این شرایط افزایش می‌یابد، در حالی که در تنش‌های طولانی مدت نمک، کاهش رشد ریشه و آسیب دیدن سلول‌های آن نیز اتفاق افتاده، در نتیجه مشکلات عدم تعادل مقدار آب در گیاه و سمّیت یونی، سبب بروز آسیب و کاهش رشد در اندام‌های هوایی نیز می‌گردد (Wang *et al*., 2006).

از سوی دیگر، دلایل احتمالی کاهش رشد ریشه می‌تواند به تلاش گیاه برای کاهش دادن منطقه جذب فعال ریشه و به طور کلی سطح قابل جذب فعال ریشه در شرایط تنش نمکی و سمّیت یونی و نیز کاهش رشد مناطقی از ریشه بازگردد که به اجبار و به طور مستقیم با تغییرات و نوسانات محیطی در ارتباط هستند.

در نتایج مطالعه حاضر، مشابه پژوهش Ben Ahmed و همکاران (۲۰۰۱) وزن خشک ریشه‌چه نیز بر اثر اعمال تنش شوری بیشتر از ساقه‌چه کاهش یافت. بر اساس نظر پژوهشگران، این مسأله می‌تواند به افزایش و تجمع مقدار Na^+ و Cl^- و کاهش مقدار K^+ در ریشه‌ها نسبت داده شود. البته برخی مطالعات نیز نشان داده است که بر اثر تنش شوری، وزن خشک ساقه‌چه، بیشتر از ریشه‌چه کاهش یافته است (Rezai *et al*., 2013). بر اساس نظر Manaa و همکاران (۲۰۱۴)، کاهش وزن خشک کل گیاه می‌تواند به علت افزایش و تجمع مقدار Na^+ و Cl^- و کاهش مقدار K^+ در ساقه‌ها و اندام‌های هوایی رخ دهد. بنابراین، چه در پاسخ به افزایش میزان شوری و چه در پاسخ به یک غلظت نمکی، گزارش‌های متفاوتی از

میزان حساسیت ساقه و ریشه وجود دارد. اما به طور کلی، عقیده بر آن است که در گیاهان به ویژه در غلات، بین قدرت انتخاب و ورود یون K^+ نسبت به یون Na^+ به سلول و میزان مقاومت نسبت به تنش نمکی، یک رابطه خطی و مثبت وجود دارد و یک تفاوت معنی‌دار می‌تواند در میزان قدرت انتخاب اندام‌های هوایی در مقایسه با اندام‌های زیرزمینی وجود داشته باشد (Ben Ahmed *et al*., 2001).

گزارش‌ها نشان می‌دهد که پرایمینگ می‌تواند در افزایش درصد جوانه زنی نهایی و بنیه بذرهای حساس به تنش و ضعیف مؤثر واقع شود. بر اساس بررسی‌ها، تیمار پرایمینگ با سالیسیلیک اسید، سبب افزایش درصد جوانه زنی، شاخص ویگور و مقدار کلروفیل های a و b در شرایط تنش شوری می‌شود (Khomari *et al*., 2014). بر اساس منابع، بر اثر پیش‌تیمار بذور با KNO_3، افزایش درصد جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه (Ahmadvand *et al*., 2012)، کاهش میانگین زمان جوانه‌زنی (Sheidaie *et al*., 2012) و افزایش سرعت جوانه‌زنی (Lara *et al*., 2014) مشاهده شده است.

نتایج پژوهش حاضر نشان می دهد که تنش شوری سبب افت درصد جوانه‌زنی (FGP) شده است، اما پرایمینگ ۳ ساعته با Na_2SiO_3 و KNO_3 در زمان‌های ۳، ۶ و ۹ ساعت، همگی سبب ارتقای این شاخص در شرایط تنش شد.

تنش شوری می‌تواند از طریق کاهش پتانسیل اسمزی (Bliss *et al*., 1986) یا ایجاد سمّیت یونی (Hampson and Simpson, 1990)، یا از هر دو راه (Huang and Redmann, 1995) سبب افت میزان جوانه‌زنی بذور گردد. اما تیمار با KNO_3 از طریق کاهش مقدار آغشتگی اولیه بذر به آب و تأمین زمان بیشتری برای ترمیم آسیب و نظم‌یابی مجدد غشاها، سبب بهبود وضعیت مقدار آب سلول‌ها شده، جوانه زنی و ویگور بذر را افزایش می‌دهد. تأثیر پرایمینگ با سیلیکون در بهبود توانایی سیستم آنتی‌اکسیدانی سلول برای از بین بردن آثار سمّیت یونی و افزایش مقاومت به دهیدراتاسیون و بهبود وضعیت آب سلول نیز گزارش شده است (Ahmed *et al*., 2013). افزون بر این، به طور کلی پرایمینگ بذر سبب پیشبرد مراحل آماده‌سازی بذر برای جوانه‌زنی و نیز طولانی شدن مرحله دوم در الگوی جذب آب توسط بذر می‌شود که در نتیجه آن بسیاری از وقایع مهم نظیر سنتز mRNAها، پروتئین‌ها، افزایش مقدار سطح انرژی سلول، تعمیر DNA و غیره پیشرفت می‌کنند. به بیان دیگر، پرایمینگ چرخه سلولی را پیش برده، تا مرحله میتوز ارتقا می‌دهد (Varier *et al*., 2010)، که این فرآیندها می‌تواند در افزایش سرعت و میزان جوانه‌زنی کاملاً مؤثر باشد.

میانگین زمان جوانه‌زنی (MGT) نیز از حدود ۱ روز در شاهد بدون تنش، به حدود ۳/۵ روز در شرایط شوری افزایش یافت اما پرایمینگ با Na_2SiO_3 در یکی از سطوح زمانی (۶ ساعته) و KNO_3 در همگی ترکیب‌های زمانی، سبب کاهش میانگین زمان جوانه زنی شد. بهبود میانگین سرعت جوانه‌زنی (MGR) در رابطه با تأثیر تیمارها، وضعیتی مشابه شاخص میانگین زمان جوانه زنی داشت و ضریب سرعت جوانه‌زنی (CVG) نیز توسط Na_2SiO_3 ۶ ساعته افزایش یافت. به طور کلی، هر سه شاخص ذکر شده نشان‌دهنده تأثیر پرایمینگ در جهت کاهش زمان و افزایش سرعت جوانه‌زنی و خروج ریشه چه در شرایط تنش است. اما بر اساس جدول ۱

اختلافی نیز میان آنها در موارد جزیی نظیر معنی‌دار بودن تأثیر تیمارهای ۱۲ ساعته Na_2SiO_3 و KNO_3 وجود دارد. یک بررسی کلی روی داده‌های این شاخص ها نشان می‌دهد که مقادیر این شاخص‌ها (MGR و CVG) در شاهد در آب، به ترتیب: ۳/۲۷، ۳/۲ برابر مقدار آنها در شاهد در تنش بود و برای MGT نیز زمان مورد نظر در شاهد در تنش، ۳/۳ برابر زمان جوانه‌زنی در شاهد در آب بوده است. این مقایسه بین شاخص هایی که در واقع بیانگر یک مفهوم هستند، نشان می دهد که علیرغم آن که مقادیر در نمونه‌های شاهد آنها تقریباً مشابه بوده و تفاوت‌های جزیی دارد، اما در رابطه با تیمارها، معنی‌دار بودن تأثیر این شاخص‌ها می‌تواند متفاوت باشد. به همین دلیل، با آن که ارزیابی هر سه شاخص، که در واقع همگی بیانگر سرعت جوانه زنی هستند، ممکن است بی‌فایده به نظر برسد، اما بررسی و مقایسه فوق نشان می‌دهد که نتایج بررسی سه شاخص مزبور به ویژه در رابطه با تأثیر پرایمینگ ۱۲ ساعته دارای تفاوت است.

بنابراین به نظر می‌رسد بررسی و محاسبه شاخص‌های مرتبط در زمینه تأثیر تیمارها سودمند است و می‌تواند به اطمینان محقق جهت گزینش بهترین تیمار بیافزاید. در همین رابطه، تیمار زمانی ۱۲ ساعته در بهبود شاخص میانگین سرعت جوانه زنی و زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی در تنش، صرفاً در تیمار KNO_3 مؤثر بود، در حالی که شاخص‌های درصد جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی، ضریب سرعت جوانه‌زنی، ضریب آلومتری، شاخص ویگور یک و دو، اغلب در هر دو تیمار Na_2SiO_3 و KNO_3 تأثیر منفی تیمار ۱۲ ساعته را نشان داده‌اند که در واقع شرایطی بدتر از شاهد در تنش را برای بذور نشان می دهد. بر همین اساس، به نظر می‌رسد که تیمارهای ۱۲ ساعته نیترات پتاسیم و سیلیکون، برای پرایمینگ بذور یونجه رقم همدانی در جهت ایجاد تحمل به شوری، گزینه مناسبی نباشند. با وجود این، اگر بهبود وضعیت گیاهچه (و نه جوانه‌زنی بذر) از نظر میزان کلروفیل مورد نظر باشد، ترکیب تیماری ۱۲ ساعته هر دو ماده نیز مفید به نظر می‌رسد.

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار ($P<0.05$) بنیه بذر یونجه شاهد در تنش، نسبت به شاهد در آب گردید. مقدار بنیه بذر، یعنی شاخص‌های ویگور یک و دو در اثر پرایمینگ با KNO_3، ۳ ساعته افزایش یافتند و به مقدار آن در شاهد در آب رسیدند.

همچنین، بر اساس منابع، پرایمینگ سبب می‌شود که بذور پرایم شده به جوانه زنی سریع و پیش رونده وادار شده و مقدار و یکنواختی گیاهچه‌های سبز شده در آنها بهبود یابد. ضریب یکنواختی جوانه‌زنی (CUG) در پژوهش حاضر، بر اثر اعمال شوری، از یک مقدار بیشینه در کشت شاهد بدون تنش به یک مقدار کمینه در شاهد در تنش رسید و به میزان ۹۸/۳ درصد کاهش یافت. پرایمینگ، سبب بهبود این شاخص در شرایط تنش نشد، اما کاشت بذور پرایم شده با تیمارهای ۶ و ۹ ساعته KNO_3 در شرایط بدون تنش، به ترتیب موجب ۱۸ و ۲۷ درصد ارتقای این شاخص نسبت به شاهد در آب و افزایش یکنواختی کشت در شرایط طبیعی شد. نتایج، همچنین نشان داد که در اغلب موارد، شرایط بذور پرایم شده در آب، مشابه شاهد در آب بوده و در موارد کمتر، افت شاخص‌ها برای بذور پرایم شده در آب مشاهده گردید.

تنش شوری سبب کاهش مقادیر کلروفیل a،

کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید گردید، در حالی که پرایمینگ آنها را افزایش داد. کاهش مقدار کلروفیل در شوری زیاد می‌تواند به علت افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز (Rao and Rao, 1981) یا تأثیر تخریبی رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) تولید شده در شرایط تنش باشد (Navari-Izzo *et al*., 1990). افزایش مقدار کلروفیل گیاه بر اثر تیمارهای Na_2SiO_3 و KNO_3 نیز می‌تواند دال بر تخفیف آثار تنش شوری و کاهش صدمه به کلروفیل باشد (Lee *et al*., 2010؛ Kumar *et al*., 2014).

بر اساس نظر پژوهشگران، به خوبی مشخص شده است که برای برخی گونه‌های گیاهی بالاتر بودن نسبت K^+/Na^+ ممکن است مهم‌تر از پایین نگه داشتن مقدار سدیم باشد (Cuin *et al*., 2003). اثر مثبت KNO_3 می‌تواند به علت افزایش نسبت پتاسیم به سدیم در بذور پرایم شده باشد، گرچه استفاده از مونو پتاسیم فسفات (KH_2PO_4) باعث افزایش مقدار کلروفیل‌های a و b، به میزانی که KNO_3آن را افزایش داد، نشد (Armand Torab and Madadkar Haghjou, 2015). بنابراین، به نظر می‌رسد عوامل دیگری سبب تأثیرگذاری KNO_3 شده باشند. نتایج بررسی Lara و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که پرایمینگ بذور گوجه‌فرنگی با KNO_3 سبب فعال سازی و نیز سنتز آنزیم نیترات ردوکتاز (NR) و تولید نیتریت/ نیتریک اکساید (NO) شد که علاوه بر افزایش جذب و متابولیسم آنیون نیترات، سنتز نیتریک اکساید و به راه افتادن مسیرهای سیگنالی را موجب می‌گردد. در تحقیق مزبور، همچنین فعال سازی سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی سلول در اثر تأثیر NO مشاهده شد که سبب مقابله بیشتر بذور با تنش گردید. بر اساس منابع، پتاسیم همچنین در برقراری تعادل پتانسیل غشا، تورگر سلولی و تنظیم فشار اسمزی، فعال‌سازی آنزیم‌های دخیل در سنتز پروتئین و کربوهیدرات با تحت تأثیر قرار دادن قابلیت نفوذ غشا، حرکت روزنه‌ها و قطبیت غشا نقش دارد (Preece and Read, 1993؛ Maathuis and Sanders, 1996؛ Elumalai *et al*., 2002). در بیشتر تیمارها، Na_2SiO_3 در مقایسه با KNO_3 تأثیرگذاری کمتری بر بهبود شاخص ها و القای تحمل بذر به تنش داشت، با این حال، در سه زمان پرایمینگ ۳، ۶ و ۹ ساعت، توانست T50 یا زمان رسیدن به نصف جوانه زنی بذور را کاهش دهد. این ماده همچنین مقادیر کلروفیل‌ها را افزایش داد اما مقدار پرولین در اثر تیمار با آن افزایش نیافت. بررسی‌های Lee و همکاران (۲۰۱۰) نشان داده است که تیمار گیاه سویا تحت تنش شوری با Na_2SiO_3 خارجی سبب افزایش رشد و توسعه گیاه شده و اثر تنش شوری را کاهش می‌دهد. بنابراین، احتمال می‌رود که کاهش مقدار پرولین در بذور پرایم شده‌ای که در شرایط شوری قرار گرفته‌اند، به دلیل افزایش تحمل بذور به شوری و کم شدن آثار سوء آن باشد، زیرا تنش شوری به طور مشخص مقدار پرولین را افزایش می دهد. البته با آن که تجمع پرولین در تنش اسمزی به خوبی اثبات شده است، اما هنوز یک توافق کلی در رابطه با نقش پرولین در پاسخ به تنش وجود ندارد (Kavi Kishor *et al*., 2005 به نقل از Lee و همکاران (۲۰۱۰)). برتری قابل توجه مقدار پرولین در شاهد در تنش، به مقدار آن در شاهد در آب و نیز کاهش آن در بذور پرایم شده در جدول ۲ مشاهده می گردد.

جمع‌بندی

تنش شوری ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم سبب افت شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و نیز رشد گیاهچه یونجه رقم همدانی گردید. ترکیب‌های تیماری حاوی KNO_3 در بهبود شاخص‌های ارزیابی شده از تیمارهای Na_2SiO_3 مؤثرتر به نظر رسید. ترکیب‌های تیماری پرایمینگ با مدت زمان‌های کمتری از هر دو تیمار (Na_2SiO_3 و KNO_3)، در شرایط تنش شوری، سودمندتر از زمان‌های پرایمینگ ۱۲ ساعته آنها بود، گرچه تیمارهای ۳ و ۶ ساعته Na_2SiO_3 و هر سه زمان (۳، ۶ و ۹ ساعت) KNO_3، در بهبود شاخص ها، دارای اهمیت بود. این امر که زمان تیمار یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر کارآمدی پرایمینگ است، به این علت است که هر نمونه بذر در یک زمان ویژه، قادر است آمادگی لازم برای فعل و انفعالات بیوشیمیایی جوانه‌زنی در حین پرایمینگ را کسب نماید. بذور پرایم شده در شرایط بدون تنش (آب) اغلب وضعیتی مشابه بذور پرایم نشده در آب (شاهد در آب) داشتند. برخی موارد، از ارتقای شاخص‌ها بر اثر پرایمینگ حتی بیشتر از شاهد بدون تنش حکایت داشت. در مجموع، تیمارهای پرایمینگ سبب افزایش جوانه‌زنی، کاهش زمان جوانه‌زنی و افزایش رنگدانه‌ها در شرایط تنش شوری شد که می‌تواند بیانگر افزایش سطح تحمل بذر یونجه به تنش شوری باشد.

سپاسگزاری

نگارندگان از امور پژوهشی دانشگاه لرستان به خاطر حمایت مالی پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

Abbasian, A. and Moemeni, J. (2013) Effects of salinity stress on seed germination and seedling vigor indices of two halophytic plant species (*Agropyron elongatum* and *A. pectiniforme*). International Journal of Agriculture and Crop Sciences 5(22): 2669-2676.

Afzal, I., Hussain, B., Basra, S. M. A. and Habib Ullah, S. (2011) Halopriming triggers higher germination potential and early seedling growth of tomato. Journal of Agriculture and Social Science 7(3): 105-108.

Ahmadvand, G., Soleimani, F., Saadatian, B. and Pouya, M. (2012) Effects of seed priming on germination and emergence traits of two soybean cultivars under salinity stress. International Research Journal of Applied and Basic Sciences 3(2): 234-241.

Ahmed, M., Kamran, A., Muhammad, A., Qadeer, U., Ahmed, Z. I. and Goyal, A. (2013) Silicon priming: a potential source to impart abiotic stress tolerance in wheat: A review. Australian Journal of Crop Science 7(4): 484-491.

Ali Mohammadizad, H., Khazaei, I., Ghafari, M., Fatehi Sinehsar, M. F. and Barzegar, R. (2013) Effect of salt and drought stresses on seed germination and early seedling growth of *Nepeta persica*. International Journal of Farming and Allied Sciences 2(21): 895-899.

Amooaghaei, R. (2011) The effect of hydro and osmopriming on alfalfa seed germination and antioxidant defenses under salt stress. African Journal of Biotechnology 10(33): 6269-6275.

Amoo-Zad-Khalili, Z., Mohamadi Todashki, M. R. and Eshraghi-Nejad, M. (2013) The effect of hydro and osmo ($ZnSO_4$) priming on seed germination characteristics under salt (NaCl) stress on *Silybum marianum* (Milk thistle) seeds. International Journal of Agriculture and Crop Sciences

5(24): 2979-2984.

Arab, L. and Ehsanpour, A. A. (2012) Improvement of some physiological responses of alfalfa (*Medicago sativa* L.) under in vitro salt stress using triadimefon. Progress in Biological Sciences 3(1): 31-40.

Armand Torab, K. and Madadkar Haghjou, M. (2015) The effect of monopotassium phosphate priming on growth and germination in *Medicago sativa*. 1st National Conference of Agriculture, Koohdasht, Iran (in Persian).

Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2005) Pre-sowing seed treatment a shotgun approach to improve germination, plant growth and crop yield under saline and non-saline conditions. Advances in Agronomy 88: 223-269.

Azooz, M. M. (2009) Salt stress mitigation by seed priming with salicylic acid in two faba bean genotypes differing in salt tolerance. International Journal of Agriculture and Biology 11(4): 343-350.

Bar, Y., Apelbaum, A., Kafkafi, U. and Goren, R. (1997) Relationships between chloride and nitrate and its effect on growth and mineral composition of avocado and citrus plants. Journal of Plant Nutrition 20(6): 715-731.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39(1): 205-207.

Batool, A., Ziaf, K. and Amjad, M. (2015). Effect of halo-priming on germination and vigor index of cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata). Journal of Environmental and Agricultural Sciences 2(7): 1-8.

Ben Ahmed, H., Zid, E. and Grignon, C. (2001) Salt sensitivity and K/Na selectivity in *Setaria verticillata*. Plant Nutrition 92: 418-419.

Berg, W. K., Cunningham, S. M., Brouder, S. M., Joern, B. C., Johnson, K. D. and Volenec, J. J. (2005) Influence of phosphorus and potassium fertilization on alfalfa yield and yield components. Crop Science 45(1): 297-304.

Bliss, R. D., Plattaloia, K. A. and Thomson, W. W. (1986) Osmotic sensitivity in relation to salt sensitivity in germinating barley seeds. Plant Cell and Environment 9(9): 721-725.

Blomster, T., Salojärvi, J., Sipari, N., Brosché, M., Ahlfors, R., Keinänen, M., Overmyer, K. and Kangasjärvi, J. (2011) Apoplastic reactive oxygen species transiently decrease auxin signaling and cause stress-induced morphogenic response in Arabidopsis. Plant Physiology 157(4): 1866-1883.

Bradford, K. J. (1986) Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. Horticultural Science 21(5): 1005-1112.

Chen, K. and Arora, R. (2011) Dynamics of the antioxidant system during seed osmopriming, post-priming germination and seedling establishment in Spinach (*Spinacia oleracea*). Plant Science 180(2): 212-220.

Chen, K. and Arora, R. (2013) Priming memory invokes seed stress-tolerance. Environmental and Experimental Botany 94: 33-45.

Chutipaijit, S., Cha-um, S. and Sompornpailin, K. (2011) High contents of proline and anthocyanin increase protective response to salinity in *Oryza sativa* L. *spp*. indica. Australian Journal of Crop Science 5(10): 1191-1198.

Cuin, T. A., Miller, A. J., Laurie, S. A. and Leigh, R. A. (2003) Potassium activities in cell compartments of salt-grown barley leaves. Journal of Experimental Botany 54(383): 657-661.

Darvishi, B., Poustini, K. and Tavakol-Afshari, R. (2005) Photosynthetic reaction of four native cultivars of alfalfa of Iran to salinity stress. Journal of Agriculture Science of Iran 36(6): 1529-1538 (in Persian).

De Castro, R. D., van Lammeren, A. A., Groot, S. P., Bino, R. J. and Hilhorst, H. W. (2000) Cell division and subsequent radicle protrusion in tomato seeds are inhibited by osmotic stress but DNA synthesis and formation of microtubular cytoskeleton are not. Plant Physiology 122(2): 327-336.

Dobrenz, A., Robinson, D. and Smith, S. (1986) Improving the germination salt tolerance of alfalfa. In: Forage and Grain Reports. Univeristy of Arizona, Cooperature Extension Service Press, Arizona.

Ebadi Almas, D., Bagherikia S. and Mahdavi Mashaki, K. (2013) Effects of salt and water stresses on germination and seedling growth of *Artemisia vulgaris* L.. International Journal of Agriculture and Crop Sciences 56(11): 762-765.

Elumalai, R. P., Nagpal, P. and Reed, J. W. (2002) A mutation in the Arabidopsis KT2/KUP2 potassium transporter gene affects shoot cell expansion. Plant Cell 14(1): 119-131.

Farooq, M., Aziz, T., Basra, S. M. A., Cheema, M. A. and Rehman, H. (2008) Chilling tolerance in hybrid maize induced by seed priming with salicylic acid. Journal of Agronomy and Crop Science 194(2): 161-168.

Hampson, C. R. and Simpson, G. M. (1990) Effects of temperature, salt and osmotic potential on early growth of wheat (*Triticum aestivum*) germination. Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique 68(3): 524-528.

Hasanuzzaman, M., Nahar, K. and Fujita, M. (2013) Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages. In: Ecophysiology and responses of plants under salt stress (Eds Ahmad, P., Azooz, M. M. and Prasad, M. N. V.) 25-87. Springer, New York.

http://www.maj.ir/portal/File/ShowFile.aspx?ID=95f9affc-8eb0-44f8-8113-1a23cf5bb07c. Retreived from: www.maj.ir On: 27 June 2015.

Huang, J. and Redmann, R. E. (1995) Salt tolerance of *Hordeum* and *Brassica* species during germination and early seedling growth. Canadian Journal of Plant Science 75(4): 815-819.

Jisha, K. C. and Puthur, J, T. (2014) Halopriming of seeds imparts tolerance to NaCl and PEG induced stress in *Vigna radiata* (L.) Wilczek varieties. Physiology and Molecular Biology of Plants 20(3): 303-312.

Jones, K. W. and Sanders, D. C. (1987) The influence of soaking pepper seed in water or potassium salt solutions on germination at three temperatures. Journal of Seed Technology (USA) 11(1): 97-102.

Kader, M. A. (2005) A comparison of seed germination calculation formulae and the associated interpretation of resulting data. Royal Society of New South Wales 135: 65-75.

Kavi Kishor, P. B., Sangam, S., Amrutha, R. N., Sri-Laxmi, P., Naidu, K. R., Rao, K. R. S. S., Rao, S., Reddy, K. J., Theriappan, P. and Sreenivasulu, N. (2005) Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. Current Science 88: 424-438.

Kayani, S. A., Nagvi, H. and Ting, I. P. (1990) Salinity effects on germination and mobilization of reserves in jojob seed. Crop Science 30(3): 704-708.

Keiffer, C. and Ungar, I. (1997) The effect of extended exposure tohypersaline conditions on the germination of five inland halophyte species. American Journal of Botany 84: 104-111.

Khodabandeh, N. (2009) Cultivation of forage plants. Nashr-e-Elm-e-Keshavarzi Press, Tehran (in Persian).

Khomari, S., Soltani-nezhad, M. and Sedghi, M. (2014) Effect of seed vigour and pretreatment on germinability and seedling growth of safflower under drought and salinity conditions. International Journal of Farming and Allied Sciences 3(12): 1229-1233.

Kumar, S., Bose, B. and Pradhan, N. (2014) Potassium nitrate priming affects the activity of nitrate reductase and chlorophyll content in late sown sesame (*Sesamum indicum* L.). Trends in Biosciences 7: 4466-4470.

Labouriau, L. G. (1970) On the physiology of seed germination in *Vicia graminea* Sm. I. Anais da Academia Brasileira de Ciências 42: 235-262.

Lara, T. S., Lira, J. M. S., Rodrigues, A. C., Rakocevic, M. and Alvarenga, A. A. (2014) Potassium nitrate priming affects the activity of nitrate reductase and antioxidant enzymes in tomato germination. Journal of Agricultural Science 6(2): 72-80.

Lee, S. K., Sohn, E. Y., Hamayun, M., Yoon, J. Y. and Lee, I. J. (2010) Effect of silicon on growth and salinity stress of soybean plant growth under hydroponic system. Agroforestry Systems 80(3): 330-340.

Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic biomembrane. Methods of Enzymology 148: 350-382.

Maathuis, F. J. M. and Sanders, D. (1996) Mechanisms of potassium absorption by higher plant roots. Physiologia Plantarum 96(1): 158-168.

Manaa, A., Mimouni, H., Terras, A., Chebil, F., Wasti, S., Gharbi, E. and Ben Ahmed, H. (2014) Superoxide dismutase isozyme activity and antioxidant responses of hydroponically cultured *Lepidium sativum* L. to NaCl stress. Journal of Plant Interactions 9(1): 440-449.

Moemeni, A. (2010) Geographical distribution and salinity levels of soil resources of Iran. Journal of Soil Researches (Soil and Water Sciences) 24: 203-215 (in Persian).

Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell and Environment 25(2): 239-250.

Najari, S., Sepehri, A., Seyedi, M. and Zahedi, M. (2011) Effect of osmo priming sodium carbonate in different cultivars seeds of *Medicago sativa* L. under salt stress. 1st National Conference of New Topics in Agriculture, University of Saveh, Saveh, Iran (in Persian).

Nakagami, H., Pitzschke, A. and Hirt, H. (2005) Emerging MAP kinase pathways in plant stress signaling. Trends in Plant Science 10(0037): 339-346.

Nakaune, M., Hanada, A., Yin, Y-G., Matsukura, C., Yamaguchi, S. and Ezura, H. (2012) Molecular and physiological dissection of enhanced seed germination using short-term low-concentration salt seed priming in tomato. Plant Physiology and Biochemistry 52: 28-37.

Navari-Izzo, F., Quartacci, M. F. and Izzo, R. (1990) Water-stress induced changes in protein and free amino acids in field grown maize and sun flower. Plant Physiology and Biochemistry 28(4): 531-537.

Norouzi Haroni, N., Tabari, M. and Dey, D. (2015) Effect of halopriming treatment on seed germination and seedling emergence of Judas tree (*Cercis siliquastrum* L., Caesalpiniaceae) from Zanjan, Iran. African Journal of Agricultural Research 10(23): 2355-2362.

Overlach, S., Diekmann, W. and Raschke, K. (1993) Phosphate translocator of isolated guard-cell chloroplasts from *Pisum sativum* L. transport glucose-6-phosphate. Plant Physiology 101(4): 1201-

1207.

Pitman, M. G. and Läuchli, A. (2002) Global impact of salinity and agricultural ecosystems. Salinity, environment plants molecules. Kluwer Academic Press, Dordrecht.

Preece, J. E. and Read, P. E. (1993) Mineral nutrition, the biology of horticulture crop. 2nd edition, John Wiley & Sons Inc., Hoboken, New Jersey.

Pujol, J. A., Calvo, F. J. and Ramírez-Díaz, L. (2000) Recovery of germination from different osmotic conditions by four halophytes from southeastern Spain. Annals of Botany 85(2): 279-286.

Ranal, M. A. and Santana, D. G. (2006) How and why to measure the germination process? Revista Brasileira de Botanical 29(1): 1-11.

Rao, G. G. and Rao, G. R. (1981) Pigment composition and chlorophyllase activity in pigeon pea (Cajanus indicus) and gingelly (*Sesamum indicum*) under NaCl salinity. Indian Journal of Experimental Biology 19: 768-770.

Rezai, S., Orojloo, M., Shirani Bidabadi, S. and Soleimanzadeh, M. (2013) Possible role of methyl jasmonate in protection to NaCl-induced salt stress in pepper cv. Green Hashemi. International Journal of Agriculture and Crop Sciences 6(17): 1235-1238.

Salehzade, H., Izadkhah Shishvan, M., Ghiyasi, M., Forouzin, F. and Abbasi Siyahjani, A. (2009) Effect of seed priming on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) Research Journal of Biological Sciences 4(5): 629-631.

Shams-Esfandabadi, R., Shariati, M. and Modares-Hashemi, S. M. (2005) Study of some dormancy breacking treatments in five pronances of *Stipa barbata* Desf. Journal of Biology of Iran 18(1): 48-59 (in Persian).

Shannon, M. (1984) Breeding selection and genetics of salt tolerance. In: Salinity tolerance in plants: strategies for crop improvement (Eds. Staples, R. C. and Toenniessen, G. H.) 300-308. John Wiley & Sons Inc., New York.

Sheidaie, S., Sadeghi, H., Yari, L., Oskouei, B. and Rahmani, M. (2012) Effect of seed treatments on germination indices of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrids under drought stress conditions. Technical Journal of Engineering and Applied Sciences 2(7): 157-161.

Singh, B. and Ushu, K. (2003) Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. Growth Regulators 39(2): 137-141.

Smith, S. E. (1984) Salinity and the production of alfalfa. In: Plant and crop stress (Ed. Pessarakli, M.) Marcel Dekker Press, New York.

Soltani, A., Khodarahmpour, Z. and Ashraf Jafari, A. (2012) Study of genetic diversity tolerance to salinity stress in alfalfa (Medicago sativa L.) varieties basis on seedling growth. Journal of Crop Breeding 4(10): 29-45 (in Persian).

Summers, C. G. (1998) Integrated pest management in forage alfalfa. Integrated Pest Management Reviews 3: 127-154.

Taize, L. and Ziger, E. (2000) Plant physiology. 3rd edition. Sinauer Associates, Sunderland.

Timson, J. (1965) New method of recording germination data. Nature 207: 216-217.

Torabi, F., Majd, A. and Enteshari, S. (2012) Effect of exogenous silicon on germination and seedling establishment in *Borago officinalis* L.. Journal of Medicinal Plants Research 6(10): 1896-1901

Torabi, M., Halim, R. A., Sinniah, U. R. and Choukan, R. (2011) Influence of salinity on the germination of Iranian alfalfa ecotypes. African Journal of Agricultural Research 6: 4624-4630.

Torabian, A. R. (2010) Effect of salisylic acid on germination and growth of alfalfa (*Medicago sativa* L.) seedling under water potential loss at salinity stress. Plant Ecophysiology 2(4): 151-155.

Varier, A., Kuriakose Vari, A. and Dahlani, M. (2010) The subcellular basis of seed priming. Current Science 99(4): 450-456.

Wang, S., Guo, S., Li, J., Hu, X. and Jiao, Y. (2006) Effects of salt stress on the root growth and leaf water use efficiency of cucumber seedlings. Ying Yong Sheng Tai Xue Bao 17(10): 1883-1888.

Wang, Y., Li, K. and Li, X. (2009) Auxin redistribution modulates plastic development of root system architecture under salt stress in *Arabidopsis thaliana*. Journal of Plant Physiology 166(15): 1637-1645.

West, G., Inze, D. and Beemster, G. T. (2004) Cell cycle modulation in the response of the primary root of Arabidopsis to salt stress. Plant Physiology 135(2): 1050-1058.

Wojtyla, Ł., Kubala, S., Lechowska, K. and Garnczarska, M. (2013) Modulation of antioxidative metabolism in response to osmopriming in *Brassica napus* seeds improves germination under salt stress. Biotechnologia 94(3): 374-410.

Zhang, H., Irving, L. J., McGill, C. Matthew, C., Zhou, D. and Kemp, P. (2010) The effects of salinity and osmotic stress on barley germination rate: sodium as an osmotic regulator. Annals of Botany 106(6): 1027-1035.

Zolla, G., Heimer, Y. M. and Barak, S. (2010) Mild salinity stimulates a stress -induced morphogenic response in *Arabidopsis thaliana* roots. Journal of Experimental Botany 61(1): 211-224.

Improvement of *Medicago sativa* seed tolerance to salt stress by Na_2SiO_3 and KNO_3 treatments at different time levels

Kiomars Armand Torab [1], Maryam Madadkar Haghjou [1]* and Ahmad Ismaili [2]
[1] Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Lorestan University, Khorramabad, Iran
[2] Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

Abstract
Opposition to destructive and side effects of salt stress, have limited suitable water and soil sources for plant culturing, is possible by increasing the tolerance level of seeds and seedlings. In present research, the effect of priming technique was studied with Na_2SiO_3 or KNO_3 in 3, 6, 9 and 12 hours on *Medicago sativa* cv. Hamadani in response to 200 mM salt stress. Salinity caused a decrease of most of germination and growth indices from seeds and seedlings, whereas 3h-Na_2SiO_3 priming increased final germination percentage (FGP) and (3/6/9h)-KNO_3 increased FGP, coefficient velocity of germination (CVG), compared to control. An improvement in mean germination rate (MGR) and mean germination time (MGT) was shown by 6h-Na_2SiO_3 and all KNO_3 treatment times and increase of Vigor index (I) was observed at 3h-KNO_3. Pretreatment with (3/6/9h)-Na_2SiO_3 and all h-KNO_3 decreased T50 at stress and in non stress conditions, 9h-Na_2SiO_3 and 9h-KNO_3 caused a decrease in mean daily germination (MDG) and an increase in Timson index and improvement of coefficient uniformity of germination (CUG). 12 hour treatments from both substances exacerbated the conditions and decreased the FGP, Vig (I) and (II) and decreased CVG. All-Na_2SiO_3 and (9/12)-KNO_3 decreased the dry weight of shoots at stress. Proline was raised only with KNO_3 and salt affected pigments negatively and priming increased them. In conclusion, priming elevated tolerance to salt stress and treatment compositions with the lower times were more efficient.
Key words: KNO_3, *Medicago sativa* cv. Hamadani, Na_2SiO_3, Priming, Salt stress

* Corresponding Author: madadkar.m@lu.ac.ir